

LAPORAN AKHIR PENELITIAN *POSTDOCTORAL* PHK-PKPD 2012
FK Unpad-RSHS-RSPMN Cicendo

**SENSITIVITAS DAN SPESIFISITAS
METODE PCR-HIBRIDISASI *REVERSE DOTBLOT*
BERBASIS NON RADIOISOTOP
UNTUK DETEKSI *HUMAN PAPILLOMAVIRUS*
PENYEBAB KANKER SERVIKS**

TIM PENELITI :

Dr. Sunarjati Sudigdoadi, dr. SpMK(K), MS.

Gita Widya Pradini, dr.

Edhyana Sahiratmadja, dr., PhD

Dibiayai oleh

Hibah PHK-PKPD



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS PADJADJARAN**

JULI

2013

Lembar Pengesahan

Judul Penelitian :
SENSITIVITAS DAN SPESIFISITAS METODE PCR-HIBRIDISASI *REVERSE DOTBLOT*
BERBASIS NONRADIOISOTOP UNTUK DETEKSI *HUMAN PAPILLOMAVIRUS*
PENYEBAB KANKER SERVIKS

Peneliti Utama : Sunarjati Sudigdoadi
Lama Penelitian : 1 tahun
Tahun Mulai Penelitian : 2012
Total Biaya Penelitian : Rp 99.875.000,-
Produk yang diharapkan dari penelitian yang diajukan
: publikasi internasional; ~~HaKI; Paten~~*)

*) lingkari mana yang sesuai

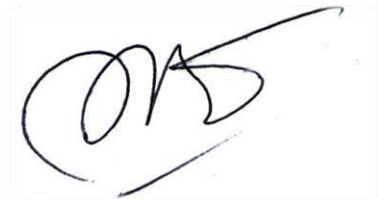
Bandung, Juli 2013

Mengetahui
Kepala Departemen Peneliti Utama



Dr. Sunarjati Sudigdoadi, dr., MS., SpMK (K)
NIP. 19511202 198001 2 001

Peneliti Utama/Penanggung Jawab
Penelitian,



Dr. Sunarjati Sudigdoadi, dr., MS., SpMK (K)
NIP.19511202 198001 2 001

1. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data spesifisitas dan sensitivitas pemeriksaan genotipe dengan menggunakan metode PCR hibridisasi *reverse dotblot* berbasis nonradioisotop untuk deteksi *human papilloma virus* penyebab kanker serviks

Tujuan Khusus

1. Menganalisis sensitivitas pemeriksaan genotipe dengan menggunakan metode PCR hibridisasi *reverse dotblot* berbasis nonradioisotop untuk deteksi *human papillomavirus* penyebab kanker serviks
2. Menganalisis spesifisitas pemeriksaan genotipe dengan menggunakan metode PCR hibridisasi *reverse dotblot* berbasis nonradioisotop untuk deteksi *human papillomavirus* penyebab kanker serviks

Kegunaan Penelitian

Pemeriksaan genotipe dengan menggunakan metode PCR hibridisasi *reverse dotblot* berbasis nonradioisotop untuk deteksi *human papillomavirus* penyebab kanker serviks yang memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi dapat menjadikan pemeriksaan ini untuk deteksi dini infeksi HPV dengan mudah dan murah.

2. Metode Penelitian

Subjek penelitian

Sebanyak 36 penderita dengan kanker serviks jenis karsinoma sel skuamosa (SCC) yang bersedia mengikuti penelitian dengan mengisi formulir *informed consent* akan diinklusi. Jumlah sampel dipilih sebanyak 36 biopsi disesuaikan dengan dana yang tersedia mengingat jumlah dana yang terbatas.

Kriteria inklusi:

- Kasus baru penderita kanker leher rahim jenis SCC

Kriteria eksklusi:

- Kasus berulang (*recurrent*)

Waktu penelitian:

Agustus 2012 – Agustus 2013

Tempat penelitian:

Laboratorium Unit Penelitian Kesehatan FKUP/RSHS

Laboratorium BATAN

Metode penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik

Spesimen biopsi dari patologi anatomi

Spesimen biopsi berasal dari pasien kanker serviks (*frozen tissue*) yang telah diklasifikasikan secara histopatologi tergolong *squamous cell carcinoma*, *adenosquamocarcinoma*, atau *adenocarcinoma*.

HPV Genotyping dengan kit komersial (Linear Array HPV Genotyping) dan metode PCR Hibridisasi Reverse Dotblot

Dari spesimen yang berupa biopsi kanker serviks dilakukan isolasi DNA dengan kit untuk ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dari sampel dilakukan dengan menggunakan AmpliLute Liquid Media Extraction kit dari Roche. Isolat DNA selanjutnya dideteksi dengan Roche *Linear Array HPV Genotyping* (kit komersial) lalu dikonfirmasi dengan metode PCR hibridisasi reverse dotblot.

Kedua kit tersebut pada prinsipnya mendeteksi beberapa genotipe dengan cara amplifikasi asam nukleat yang dilanjutkan dengan proses hibridisasi asam nukleat tersebut untuk mendeteksi beberapa tipe HPV.

1. Roche Linear Array HPV Genotyping

Kit ini mendeteksi DNA HPV dengan cara amplifikasi menggunakan primer berlabel biotin yang memiliki target gen L1 HPV. Amplikon DNA HPV kemudian didenaturasi dan dihibridisasikan pada strip *genotyping* yang mengandung sekuen beberapa tipe HPV *high risk* dan *low risk*. Setelah proses hibridisasi, kit akan mendeteksi tipe HPV berdasarkan reaksi enzimatik yang terjadi pada sekuen yang telah berhibridisasi dengan komplemennya sehingga menimbulkan warna. Pola warna yang terbentuk kemudian dibandingkan dengan referensi yang telah disediakan dalam kit untuk mengetahui genotipe HPV yang ada pada sampel.

2. PCR Hibridisasi Reverse dotblot

Merupakan kit baru yang dirancang oleh kolaborator penelitian kami (BATAN). Kit ini mampu mendeteksi DNA beberapa tipe HPV *high risk*. Pada prinsipnya kit ini bekerja dengan cara amplifikasi dengan menggunakan primer berlabel nonradioisotop dengan target gen L1 HPV. Pelacak (*probe*) spesifik 14 tipe HPV *high risk* dilekatkan pada membran dan kemudian membran dihibridisasi dengan DNA hasil amplifikasi berlabel nonradioisotop yang sudah didenaturasi. Sekuen DNA untuk pelacak 14 tipe HPV *high risk* dirancang berdasarkan hasil modifikasi dari penelitian kolaborator sebelumnya. Hasil hibridisasi kemudian dideteksi dengan autoradiografi dengan dipaparkan pada hiperfilm/ film sinar X.

Analisis data

Data kedua metode akan dibandingkan dan diuji sensitivitas dan spesifisitasnya.

3. Hasil yang Telah Dicapai

Ethical Clearance

Persiapan protokol/SOP dan *ethical clearance* telah diselesaikan, dengan diterbitkannya *Ethical Clearance* oleh Komite Etik FKUP/RSHS.

(lampiran 1)

Pengumpulan sampel untuk penelitian

Pengumpulan sampel penelitian berupa biopsi jaringan kanker serviks dilakukan sejak keluarnya *ethical clearance* dari komite etik dan izin penelitian dari direktur RSHS. Sampel yang telah mendapat persetujuan dari subjek dengan *informed consent* tertulis, berhasil dikumpulkan sebanyak 41 biopsi jaringan kanker serviks.

Dari biopsi tersebut 3 biopsi dieksklusi dari penelitian; 2 biopsi bukan merupakan kanker serviks setelah dikonfirmasi secara histopatologis,, sedangkan 1 biopsi merupakan kasus kanker serviks berulang. 38 biopsi kemudian dilakukan isolasi DNA untuk analisis lebih lanjut.

Analisis Spesimen

Isolasi DNA

Untuk mengisolasi DNA dari sampel, jaringan terlebih dahulu dibekukan dengan nitrogen cair lalu digerus dengan menggunakan mortar, hal ini akan membantu disrupti dari jaringan sehingga sel mudah dapat terlepas dari matriks ekstraseluler. Selanjutnya, masing-masing sampel yang telah digerus dimasukkan ke dalam tabung terpisah, diberi label dan dilakukan isolasi DNA sesuai dengan prosedur dari kit (AmpliLuteLiquid Media Extraction kit, Roche).

Untuk menilai kualitas DNA yang diisolasi, dilakukan uji sampel dengan menggunakan primer GH20 dan PC04 yang merupakan primer dengan target *housekeeping gene*, β -globin.

Roche Linear Array HPV Genotyping

Amplifikasi DNA

Linear array HPV genotyping mendeteksi DNA HPV dengan cara amplifikasi PCR. Proses PCR dilakukan sesuai dengan protokol dari kit tersebut menggunakan reagens yang tersedia. Proses PCR ini memiliki target gen L1 dari HPV dengan menggunakan primer PGMY yang telah diberi label biotin. Bersamaan dalam proses ini, gen β -globin juga diamplifikasi dengan primer GH20 dan PC04 sebagai kontrol internal untuk menilai kelayakan sampel dan efisiensi proses PCR.

Deteksi DNA HPV

Setelah proses amplifikasi, produk PCR (amplikon) kemudian didenaturasi dengan menambahkan reagen, kemudian dihibridisasikan pada strip yang di dalamnya telah tertanam probe (pelacak) oligonukleotida spesifik untuk 37 tipe HPV anogenital. Anogenital HPV tersebut meliputi 13 tipe high-risk (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68), lima tipe possible high-risk (26, 53, 66, 73, 82) dan 19 tipe low-risk (6, 11, 40, 42, 54, 55, 61, 62, 64, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 83, 84, 39, CP6108). Sebagai kontrol internal, probe oligonukleotida gen β -globin juga ditanam dalam strip ini. Apabila pada sampel tersebut terdapat DNA target, proses hibridisasi akan terjadi dan diikuti dengan reaksi enzimatik yang menghasilkan warna sehingga dapat divisualisasi. Pola warna yang terbentuk dalam strip kemudian dibandingkan dengan referensi yang tersedia dalam kit.

PCR Hibridisasi Reverse Dotblot

Amplifikasi DNA

DNA HPV diamplifikasi dengan menggunakan primer spesifik yang telah diberi label biotin pada gen L1 HPV. Pada saat yang bersamaan juga diamplifikasi gen β -globin sebagai kontrol internal untuk menilai kualitas sampel dan efisiensi proses PCR.

Deteksi DNA HPV

Amplikon yang merupakan produk PCR kemudian didenaturasi dan dihibridisasikan ke dalam membran. Pada membran tersebut telah tertanam probe spesifik untuk 14 tipe HPV high-risk 16, 18, 31, 33, 39, 45, 52, 58, 35, 51, 56, 59, 66, dan 68. Hasil hibridisasi kemudian dideteksi dengan memaparkan membran tersebut pada sinar X.

4. Personalia (tugas dan pembagian waktu tim peneliti, teknisi dan mahasiswa)

Personalia	Tugas	Waktu
Ketua Dr. Sunaryati Sudigdoadi, dr., MS., SpMK(K)	Persiapan <i>Ethical Clearance</i> Presentasi di komite etik FKUP/RSHS Studi studi literatur dan pengerjaan di laboratorium. Pembuatan Laporan Kemajuan dan Keuangan	Setiap hari sampai pengerjaan sampel selesai 4 jam/minggu
Anggota peneliti 1 (mahasiswa S2) Gita Widya Pradini, dr.	Persiapan <i>Ethical Clearance</i> Studi studi literatur Persiapan optimasi laboratorium Pengerjaan PCR dan genotyping di laboratorium Pembuatan Laporan Kemajuan dan Keuangan	
Anggota peneliti 2 Edhyana Sahiratmadja, dr., PhD	Persiapan <i>Ethical Clearance</i> Studi studi literatur Persiapan optimasi laboratorium Pembuatan Laporan Kemajuan dan Keuangan	
Teknisi Laboratorium : Yenni Rendieni, Amd.	Persiapan optimasi laboratorium Membantu proses pengerjaan di laboratorium	3 jam/minggu hingga proses optimasi dan pengerjaan

		sampel selesai
Administrasi : Rahadian, Amd.	Membantu proses administrasi dokumen penelitian serta membantu membuat laporan kemajuan dan laporan akhir penelitian.	6 bulan.
Petugas Lapangan : Euis, Amd.Keb.	Membantu proses inklusi pasien di klinik rawat jalan onkologi ginekologi RSHS.	Setiap hari hingga jumlah target sampel tercapai.

5. Hambatan dalam Pelaksanaan dan Cara Penanggulangannya

Pembiayaan terlambat:

Dana yang diberikan tidak sesuai dengan jadwal yang direncanakan sehingga pemeriksaan untuk menentukan genotipe HPV menjadi terhambat yang mengakibatkan mundurnya jadwal kegiatan penelitian.

Pemeriksaan genotipe dengan 3 kit komersial yang berbeda

Penelitian ini pada awalnya didasari dari hasil penelitian working group onkologi tahun sebelumnya dimana ditemukan diskrepansi hasil pada 2 kit komersial yang berbeda, sehingga peneliti ingin melakukan penelitian lebih jauh untuk mengetahui kit mana yang paling dapat diandalkan untuk genotyping HPV. Ditambah lagi dengan adanya diseminasi kit hasil pengembangan kolaborator kami yang merupakan produk nasional. Sehingga peneliti ingin membandingkan hasil ketiga kit tersebut.

Pada perjalanan penelitian ini, salah satu kit komersial ditarik dari pasaran sehingga kami hanya dapat membandingkan 2 kit yaitu satu kit komersial dengan satu kit rancangan kolaborator kami (BATAN).

Walaupun demikian, penelitian ini tetap dapat memberikan manfaat untuk pengembangan diagnostik HPV yang dirancang sendiri oleh bangsa kita.

Hambatan dalam proses optimasi Roche LA HPV Genotyping.

Dalam proses optimasi menggunakan kit komersial, tim peneliti menemukan hambatan dalam penggunaan alat yang tersedia dalam laboratorium. Pada saat pengerjaan deteksi HPV di laboratorium, diperlukan beberapa alat, diantaranya adalah *shaking water bath* dan *orbital shaker*. Ditengah-tengah perjalanan tim peneliti melakukan deteksi HPV untuk 10 sampel dan 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif, kedua alat tersebut tiba-tiba rusak sehingga tidak dapat digunakan. Untuk mengatasinya, tim peneliti telah berusaha semaksimal mungkin untuk melakukan proses *shaking* secara manual. Walaupun demikian, karena proses *shaking* yang cukup lama (hingga 30 menit) dan beberapa kali, maka hasil akhir dari genotyping yang pertama kali tidak berhasil. Hal ini berdampak pada ketersediaan strip HPV yang disediakan dalam kit, sehingga hanya tersisa 36 strip, termasuk strip untuk kontrol positif dan negatif yang harus kami optimalkan untuk mendeteksi HPV dari sampel yang ada. Dari sisa strip dan reagen *Linear Array* yang tersedia, tim peneliti hanya mampu mendeteksi 25 sampel (hasil *scan* pemeriksaan terlampir).

6. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini telah dilakukan deteksi genotipe HPV dari 25 sampel biopsi yang telah diklasifikasikan secara histopatologis sebagai kanker serviks. Deteksi genotipe tersebut menggunakan kit komersial *Linear Array* (LA) HPV *Genotyping* dari Roche dan kit yang dikembangkan oleh kolabolator peneliti yaitu PCR hibridisasi *reverse dotblot*. Hasil dari deteksi genotipe HPV dengan kedua kit tersebut tercantum dalam tabel di halaman berikut :

Tabel Hasil Roche LA HPV Genotyping dan PCR hibridisasi reverse dotblot

No	Kode Sampel	Diagnosis Histopatologi	Roche Linear Array	PCR Hibridisasi Reverse Dotblot
1	HPV-136	NKSCC <i>poorly differentiated</i>	18	18
2	HPV-137	KSCC <i>Well differentiated</i>	16	16
3	HPV-138	NKSCC <i>Poorly differentiated</i>	18, 58, 52*	18
4	HPV-139	NKSCC <i>Moderately differentiated</i>	58, 52*	58
5	HPV-142	<i>early invasive scc</i>	16,18	16
6	HPV-144	<i>Adenocarcinoma Poorly differentiated</i>	18	18
7	HPV-145	<i>Adenocarcinoma Moderately differentiated</i>	18	18
8	HPV-146	<i>adenocarcinoma</i>	16,18	18
9	HPV-149	<i>Epidermoid cell carcinoma</i>	18	18
10	HPV-150	SCC <i>Poorly differentiated</i>	16,45	Negatif PCR ulang : 45
11	HPV-151	SCC	16,18	18
12	HPV-153	<i>Epidermoid carcinoma Moderately differentiated</i>	18	33
13	HPV-154	NKSCC <i>Moderately differentiated</i>	16,18	16
14	HPV-155	NKSCC , <i>large cell</i>	16,18, 52	16
15	HPV-158	KSCC	18	16
16	HPV-159	<i>Epidermoid nonkeratinizing</i>	16	16
17	HPV-160	<i>adenocarcinoma</i>	18	18
18	HPV-161	NKSCC	18	18
19	HPV-163	NKSCC <i>Moderately differentiated</i>	45	45

20	HPV-165	NKSCC <i>Moderately differentiated</i>	18	18
21	HPV-166	NKSCC <i>Moderately differentiated</i>	52	Negatif PCR ulang : 16, 18
22	HPV-167	NKSCC <i>Moderately differentiated</i>	45, 52	52
23	HPV-169	NKSCC <i>Moderately differentiated</i>	16	16
24	HPV-170	NKSCC <i>Moderately differentiated</i>	16	16
25	HPV-171	NKSCC <i>Poorly differentiated</i>	16	16

Keterangan :

SCC = Squamous Cell Carcinoma ; KSCC = Keratinizing Squamous Cell Carcinoma ; NKSCC = Nonkeratinizing Squamous Cell Carcinoma

Sampel no 150 dan 166 dilakukan PCR ulang dengan menambah template.

*pada sampel ini kemungkinan infeksi oleh HPV genotipe 52 tidak dapat disingkirkan karena sampel berhibridisasi dengan probe yang bersifat bereaksi silang (*cross reactive probe*) yang berhibridisasi dengan HPV genotipe 33, 35, 52, dan 58

Berdasarkan hasil kedua kit di atas, tipe HPV yang terbanyak dari sampel biopsi serviks di RSHS adalah HPV tipe 18 diikuti oleh HPV tipe 16. Pada 10 sampel yang diperiksa terdeteksi lebih dari satu tipe HPV menggunakan metode LA namun dengan PCR hibridisasi *reverse dot blot*, sampel tersebut hanya mendeteksi satu tipe HPV saja. Terdapat 2 sampel tidak terdeteksi dengan metode PCR hibridisasi *reverse dot blot* namun terdeteksi dengan LA HPV *genotyping*. Setelah dilakukan PCR ulang dengan memperbanyak template, diperoleh hasil seperti tercantum pada tabel di atas. Perbedaan lainnya tampak pada 3 sampel yaitu memberikan hasil tipe HPV yang berbeda antara kedua kit tersebut. Sampel pertama oleh metode LA terdeteksi HPV tipe 18 sedangkan oleh metode PCR hibridisasi *reverse dot blot* terdeteksi HPV 33. Sampel kedua oleh metode LA terdeteksi HPV 18, sedangkan oleh metode PCR hibridisasi *reverse dot blot* terdeteksi HPV 16. Sampel ketiga oleh metode LA terdeteksi HPV 52 sedangkan oleh metode PCR hibridisasi *reverse dot blot* terdeteksi HPV 16 dan 18.

7. Simpulan

Dari hasil di atas, tampak ada perbedaan hasil yang cukup signifikan antara Roche LA HPV Genotyping dengan kit yang dikembangkan oleh kolabolator kami (PCR hibridisasi reverse dotblot). Sehingga, peneliti menyarankan perlu dilakukan lagi optimasi untuk PCR hibridisasi reverse dotblot dalam mendeteksi genotipe HPV. Peneliti sampai saat ini merekomendasikan penggunaan Roche LA untuk mendeteksi genotipe HPV karena dalam prosedur pengerjaannya tidak membutuhkan alat khusus.

8. Saran

- Melakukan optimasi teknik PCR hibridisasi reverse dotblot untuk mendeteksi genotipe HPV dengan lebih baik lagi.
- *Template* DNA yang digunakan harus baik.
- Terdapat beberapa hasil yang berbeda antara Roche LA HPV Genotyping dan PCR hibridisasi reverse dotblot (sampel nomor 153, 158 dan 166) sehingga untuk memastikan hasil yang diperoleh perlu dilakukan sekuensing.

9. Laporan Penggunaan Dana

Rincian penggunaan dana terlampir.

10. Jadwal Penelitian

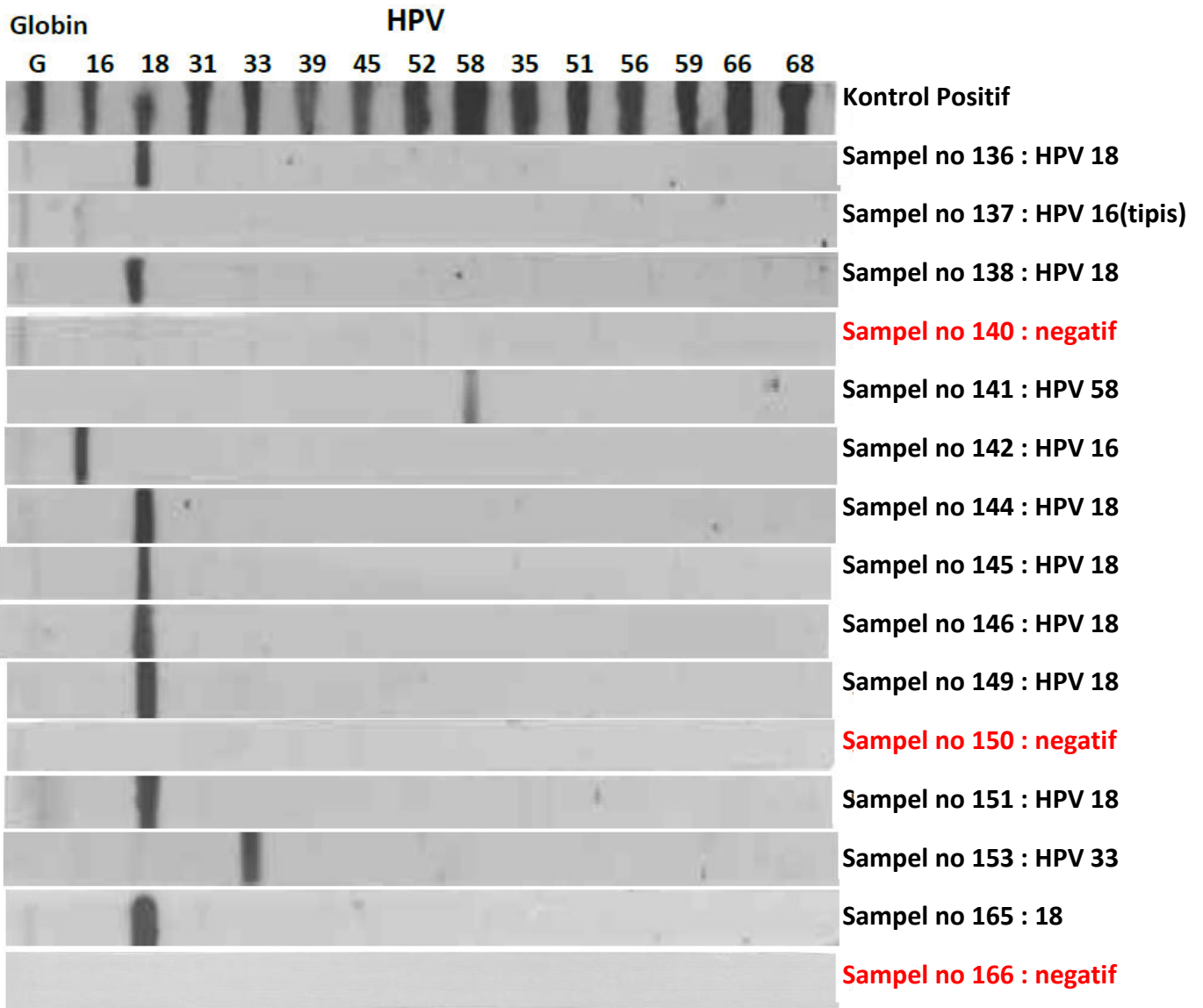
Terlampir.

LAMPIRAN 1

HASIL PCR HIBRIDISASI REVERSE DOTBLOT

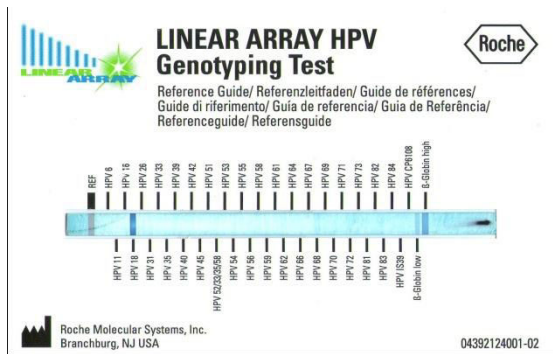
Globin		HPV													
G	16	18	31	33	39	45	52	58	35	51	56	59	66	68	
															Kontrol Positif
															Sampel no. 154 : HPV 16
															Sampel no. 155 : HPV 16
															Sampel no. 158 : HPV 16
															Sampel no. 159 : HPV 16
															Sampel no. 160 : HPV 18
															Sampel no. 161 : HPV 18
															Sampel no. 163 : HPV 45
															Sampel no. 167 : HPV 52
															Sampel no. 169 : HPV 16
															Sampel no. 170: HPV 16
															Sampel no. 171: HPV 16

HASIL PCR HIBRIDISASI REVERSE DOTBLOT

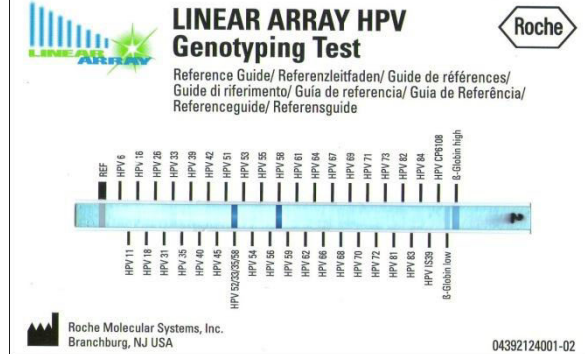


Hasil Scan Roche LA HPV Genotyping

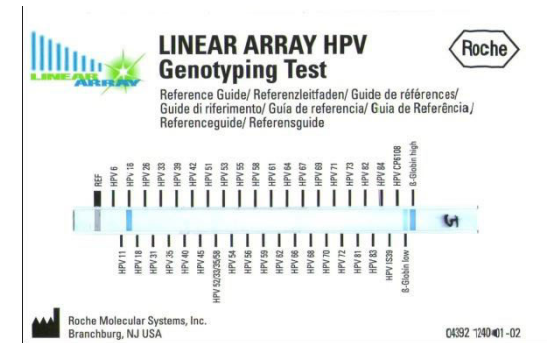
Sampel HPV 136



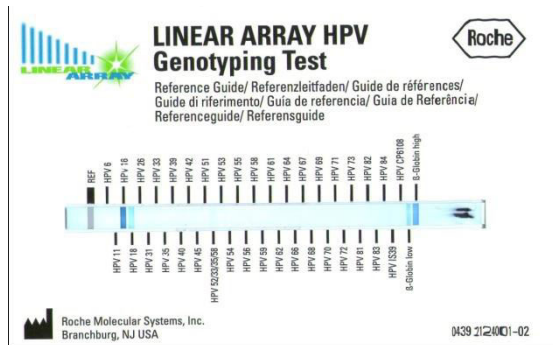
Sampel HPV 139



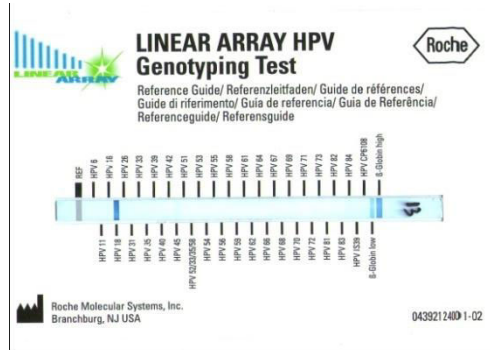
Sampel HPV 137



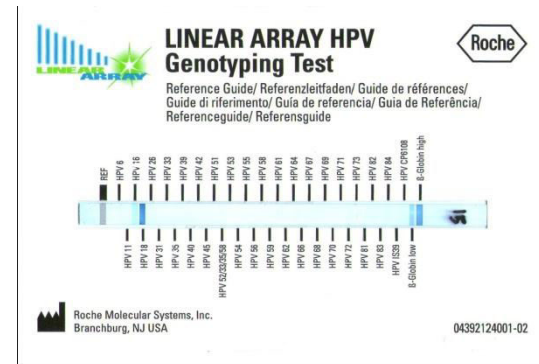
Sampel HPV 142



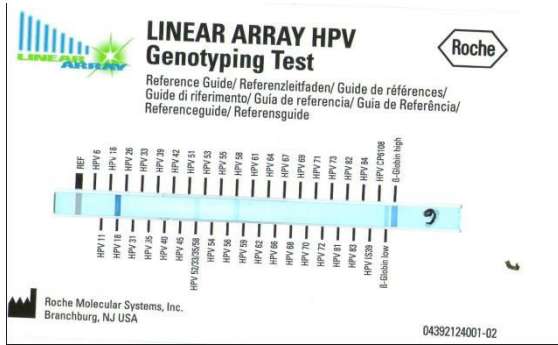
Sampel HPV 144



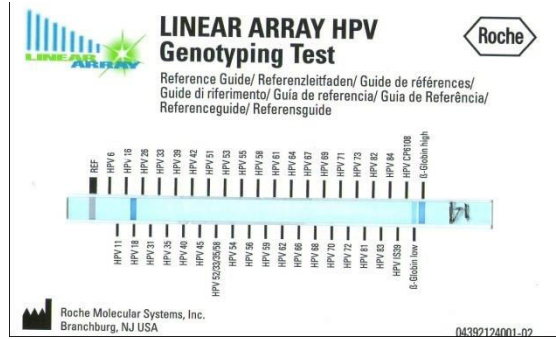
Sampel HPV 146



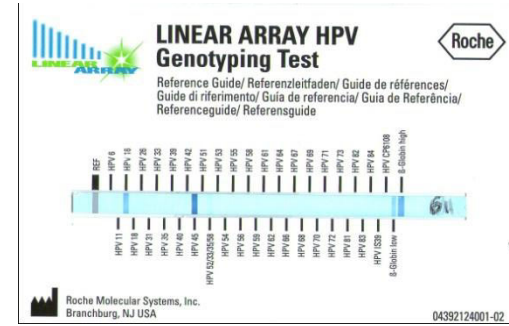
Sampel HPV 138



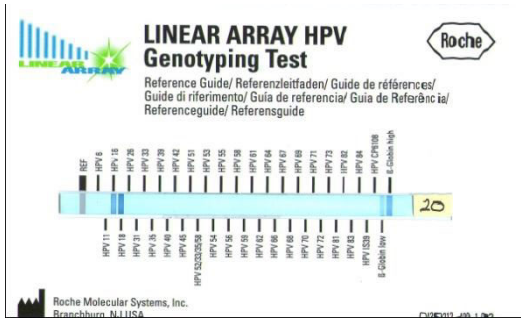
Sampel HPV 145



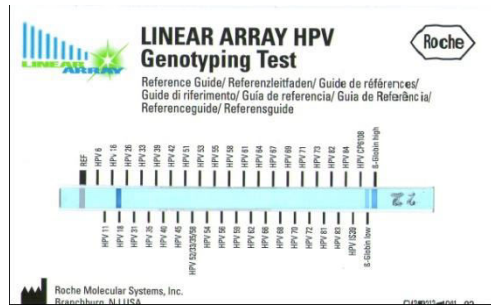
Sampel HPV 150



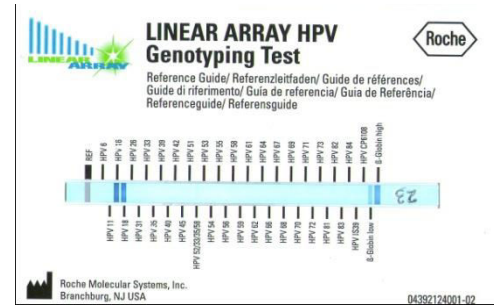
Sampel HPV 151



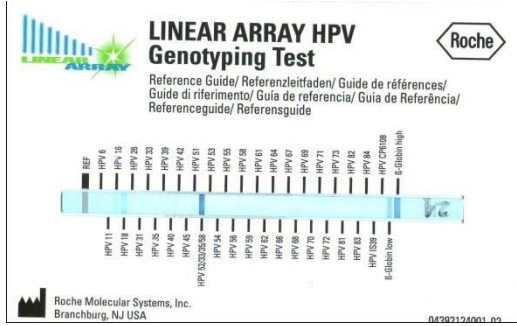
Sampel HPV 153



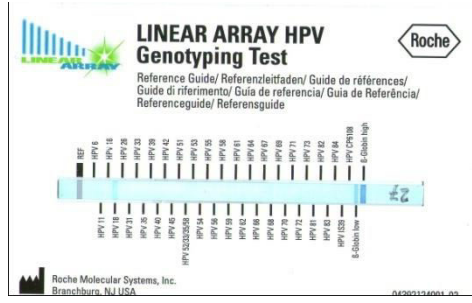
Sampel HPV 154



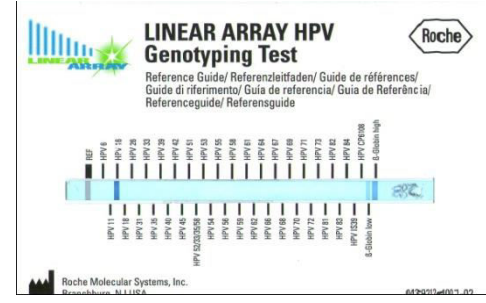
Sampel HPV 155



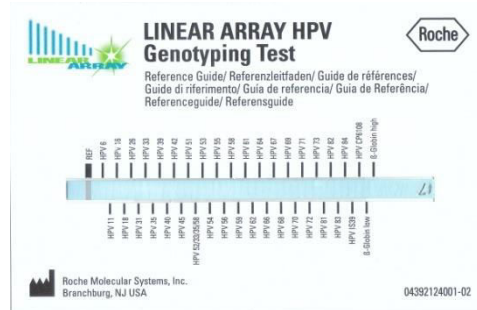
Sampel HPV 158



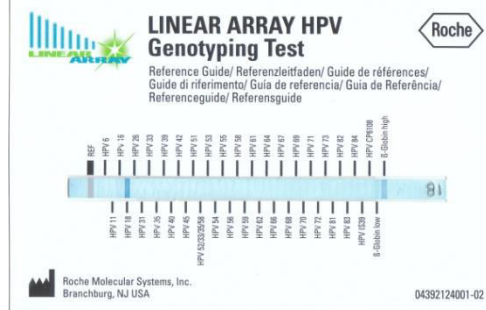
Sampel HPV 159



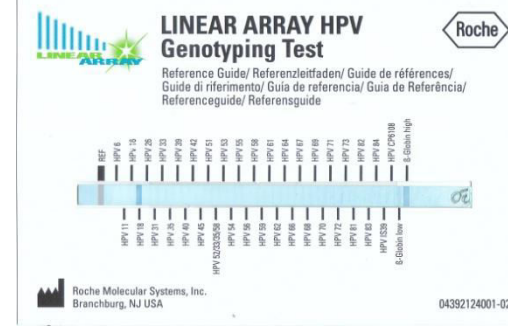
Sampel HPV 148



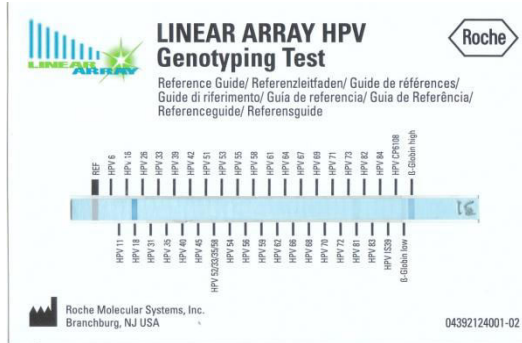
Sampel HPV 149



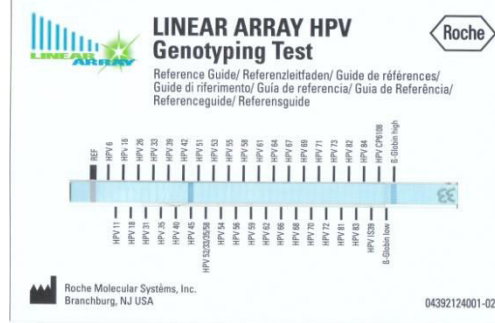
Sampel HPV 160



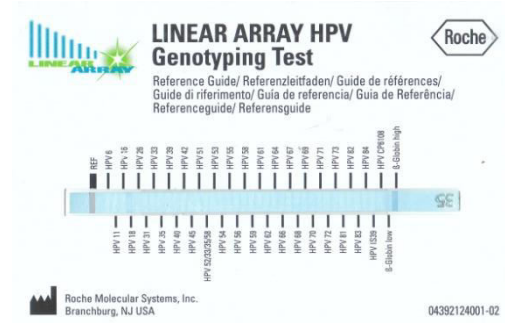
Sampel HPV 161



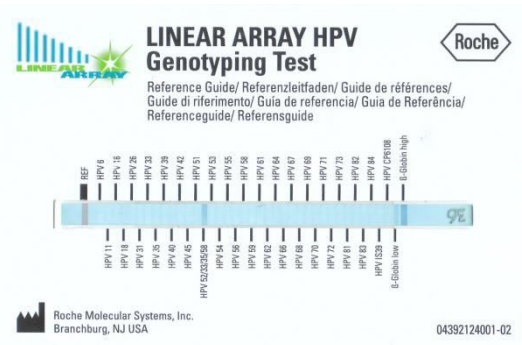
Sampel HPV 163



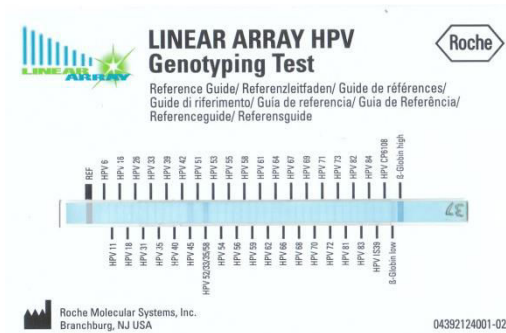
Sampel HPV 165



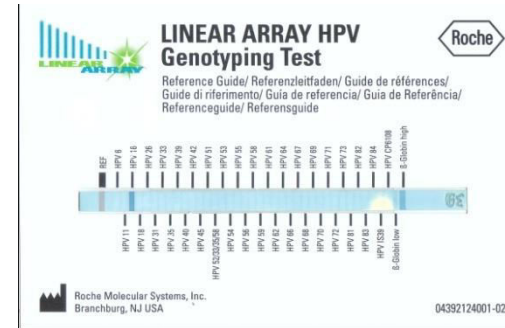
Sampel HPV 166



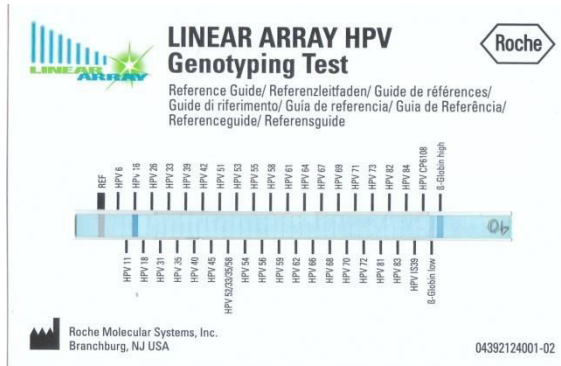
Sampel HPV 167



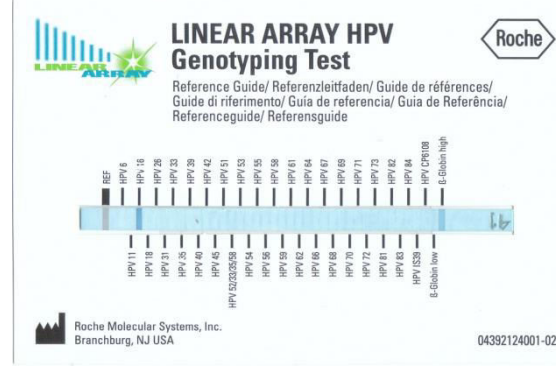
Sampel HPV 169



Sampel HPV 170



Sampel HPV 171



LAMPIRAN 3

KEGIATAN PENELITIAN YANG TELAH DILAKUKAN

Kegiatan	2012					2013							
	Agust	Sept	Okt	Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Agust
Persiapan protokol penelitian, etik, dan izin dirut RSHS	X	X	X	X Selesai									
Pembelian barang untuk pengambilan sampel (cornical tube, storage box, ATK dan folder)	X												
Pengumpulan sampel biopsi			X	X	X	X Selesai (38 sampel)							
PENCAIRAN DANA					X (cair di akhir bulan 80%)								
Pemesanan : Linear array HPV- genotyping Roche		X	X	X Reagen di distributor	X Reagens dikirim ke lab								
Pemesanan : Qiagen HPV Genotyping	Batal (produk <i>discontinue</i> dari pasaran, surat pernyataan dari produsen terlampir)												
Pemesanan : Consumables Lab						X							
Isolasi DNA dari biopsi pasien							X	X	X (sele- sai)				
Optimasi LA HPV Roche								X					

LAMPIRAN 4

Rincian Penggunaan Dana Penelitian

No	Tanggal	Rincian Belanja	Kategori	Jumlah Pengeluaran (Rp)	Saldo (Rp)
			DANA TAHAP 1 (80%)		79.900.000
1	28/08/2012	conical tube 15 ml 3 pack @ Rp. 125.000	consumables	375.000	
	28/08/2012	Storage box 4 buah @ Rp. 196.000	consumables	784.000	
2	01/09/2012	Clear Holder 1 @ Rp.22.500	ATK	22.500	
	01/09/2012	Bussiness file holder 2 @ Rp. 2.500	ATK	5.000	
	01/09/2012	Folio Book 1 @ Rp 11.000	ATK	11.000	
3	04/12/2012	Print dokumen	penggandaan dokumen	10.150	
4	04/12/2012	Photo copy	penggandaan dokumen	26.250	
5	03/01/2013	Roche Linear Array HPV Genotyping	Reagens	31.036.488	
6	03/01/2013	Pajak Pertambahan Nilai (PPN) Roche LAHPV Gen.	Pajak	3.103.649	
7	06/02/2013	pipette tips 1000 mikroliter with filter 1 box	consumables	2.370.000	
	06/02/2013	pipette tips 200 mikroliter with filter 1 box	consumables	2.500.000	
	06/02/2013	pipette tips 20 mikroliter with filter 1 box	consumables	2.370.000	
	06/02/2013	cryogenic vials 2 box @ Rp. 300.000	consumables	600.000	
	06/02/2013	storage racks with lid 1 pack	Alat	1.000.000	
	06/02/2013	serological pipette 5 ml 2 pack @	consumables	1.600.000	

		800.000			
	06/02/2013	conical tube 50 ml 1 pack	consumables	165.000	
	06/02/2013	500 ml storage glass bottle 3 buah @ Rp. 60.000	Alat	180.000	
	06/02/2013	250 ml storage glass bottle 2 buah @ 50.000	Alat	100.000	
	06/02/2013	MicroAmp 96-well tray 1 pack	Alat	1.250.000	
	06/02/2013	Nitrile blue glove 2 box @ Rp. 70.000	consumables	140.000	
	06/02/2013	Aquabidest steril 5 botol @ Rp.25.000	consumables	125.000	
	06/02/2013	Ethanol absolute 250 ml	consumables	750.000	
	06/02/2013	Ongkos kirim barang		500.000	
8	21/02/2013	Gillete Goals 1 pack	consumables	12.500	
9	25/02/2013	PP Bottle ukuran 2 liter	Alat	150.000	
	25/02/2013	MicroAmp Reaction tube 1 box	consumables	4.690.000	
	25/02/2013	MicroAmp 8-cap strips 1 box	consumables	1.800.000	
10	01/03/2013	Photo copy	penggandaan dokumen	29.400	
11	05/03/2013	Nitrogen cair 3 liter @ Rp. 7.500	consumables	22.500	
12	06/03/2013	Bayclin Regular 500 ml 1 botol @ Rp. 6.500	consumables	13.000	
	06/03/2013	Spons 1 buah @ Rp. 4.800	consumables	4.800	
13	06/03/2013	mortar 8 cm 2 buah @ Rp. 20.000	Alat	40.000	
	06/03/2013	spatula logam 4 buah @ Rp. 4.500	Alat	18.000	
	06/03/2013	pinset 2 buah @ Rp. 7.500	Alat	15.000	
	06/03/2013	pipet filler 1 buah	Alat	70.000	

14	08/03/2013	spatula logam 2 buah @ Rp. 4.500	consumables	9.000	
	08/03/2013	kantong obat (resealable plastic bags) 20x30 cm	consumables	35.000	
	08/03/2013	Aqudest 2 liter dan tempat @ Rp. 5.000	consumables	5.000	
	08/03/2013	mortar 8 cm 2 buah @ Rp. 20.000	Alat	40.000	
15	12/03/2013	Nitrogen cair 3 liter @ Rp. 7.500	consumables	22.500	
16	19/03/2013	Aquadest 10 liter dan jerigen	consumables	25.000	
17	16/04/2013	Aquabidest steril 2 botol @ Rp. 17.500	consumables	35.000	
18	16/04/2013	Falmaco non woven (towel) medium 1 pack	consumables	15.000	
19	16/05/2013	Ongkos kirim sampel melalui Xtrans ke JKT	perjalanan	40.000	
20	20/05/2013	Bayclin Regular 500 ml 1 botol	consumables	6.500	
			TOTAL	56.122.237	23.777.763



GeneCraft Labs

Kepada:
Yth. Dr. Edhyana Kusumastuti S.
Fakultas Kedokteran UNPAD
Jalan Eyckman No.38 Bandung 40161
Telp : 022 – 2032170

Hal: Surat Keterangan Produk Discontinued

Dengan hormat,

Berkaitan dengan pemesanan digene HPV Genotyping RH Test (20), CE (cat.no. #613413) oleh dr.Edhyana pada 28 November 2012 , dengan surat ini PT.GeneCraft Labs, selaku distributor tunggal dari brand QIAGEN-Germany di Indonesia, menyatakan bahwa kit tersebut telah berhenti diproduksi per tahun 2013. Adapun hingga saat ini belum ada kit pengganti yang mempunyai fungsi setara.

Kami mohon maaf sebesar-besarnya atas ketidaknyamanan yang terjadi. Semoga QIAGEN-Germany tetap dapat terus mendukung penelitian dokter dengan produk-produk lainnya.

Demikian kiranya Surat Keterangan ini kami buat, sebagai klarifikasi bagi pihak-pihak terkait. Terima kasih atas perhatian & kerjasamanya.

Jakarta 09 April 2013
PT. GeneCraft Labs



GeneCraft Labs

Teddy Gunawan, Dipl.-Ing.(FH)
Direktur

PT. GeneCraft Labs

Business Park Kebon Jeruk Blok F2 No. 9

Jl. Meruya Ilir No. 88

Jakarta 11620

Phone : (62-21) 5890 3119 (Hunting)

Fax : (62-21) 5890 3151

Email : sales@genecraftlabs.com

Website : www.genecraftlabs.com

Solutions for Life Science and Biotechnology